

ЛЕГИОНЕЛЛЫ: АКТУАЛЬНА ЛИ ДЛЯ УЗБЕКИСТАНА ЭТА ПРОБЛЕМА?

Эшназаров С.Э., Исхакова Х.И.,

Управлении санитарно-эпидемиологического надзора Главного медицинского управления при
Администрации Президента
Институт усовершенствования врачей МЗ РУз.

✓ Резюме,

В течение 2010-2016 гг. на легионеллы исследовалась вода различных искусственных водных объектов, представляющих высокий эпидемиологический риск и находящихся в административных зданиях и сооружениях г. Ташкента и Ташкентской области. Посев проб воды производился на специальные питательные среды. Выделенные изоляты подтверждали методом ПЦР в реальном времени с одновременным выявлением в образцах фрагмента ДНК гена для подтверждения рода *Legionella* и специфического фрагмента ДНК гена *mip* (для вида *L. pneumophila*). За указанный период было исследовано 302 образца воды. положительных проб было 29 (9,5%). *L. pneumophila* наиболее часто колонизировали воду из систем кондиционирования (62,1%) и систем отопления (20,7%).

Ключевые слова: *Legionella*, *L. pneumophila*, *mip* ген

ЛЕГИОНЕЛЛАЛАР: ЎЗБЕКИСТОН УЧУН ДОЛЗАРЬ МУАММОМИ?

Эшназаров С.Э., Исхакова Х.И.,

Управлении санитарно-эпидемиологического надзора Главного медицинского управления при
Администрации Президента
Врачлар малакасини ошириш институти УзРесССВ.

✓ Резюме,

2010-2016 йилларда Тошкент шаҳри ва Тошкент вилоятида юқори эпидемиологик ҳавф тугдирувчи ва маъмурий бино ва иншоотларда жойлашган турли хил сунъий сув объектлари легионеллаларга текширилди. Сув намуналари махсус озуқа муҳитларга экилди. Ажратилган изолятлар жараён вақтида - ПЗР усули ёрдамида бир вақтни ўзида намунадан ДНК гени фрагментларини аниқлаш билан бирга легионелла авлодини ва *mip* (*L. pneumophila* тури учун) ДНК гени фрагментини аниқлаш мақсадида тасдиқланди. Кўрсатилган давр мобайнида 302 та сув намуналари текширилди ва мусбат намуна 29(9,5%)ни ташкил этди. *L. pneumophila* кондиционерлаш тизими(62,1%) ва иситиш тизими(20,7%) сувларида юқорироқ даражада аниқланди.

Калит сўзлар: *Legionella*, *L. pneumophila*, *mip* ген

LEGIONELLA: IS THIS RELEVANT PROBLEM FOR UZBEKISTAN?

Eshnazarov S., E, Iskhakova Kh.I.,

Management of sanitary and epidemiological surveillance of the Main medical department under the Presidential
Administration
Institute of postgraduate medical education Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan.

✓ Resume,

During 2010-2016 years *Legionella* examined the water of various artificial water bodies that pose a high epidemiological risk and are located in administrative buildings and structures of Tashkent city and the Tashkent region. Sowing risk samples was carried out on special nutrient media. The isolates confirmed real-time PCR with the simultaneous detection of a gene DNA fragment in the samples to confirm the genus *Legionella* and a specific *mip* DNA fragment of the *mip* gene (for the species *L. pneumophila*). During this period, 302 water samples were examined. There were 29 positive samples (9.5%). *L. pneumophila* most often colonized water from air conditioning systems (62.1%) and heating systems (20.7%).

Key words: *Legionella*, *L. pneumophila*, *mip* gene

Актуальность

Блезнь легионеров (БЛ) стала известна человечеству только в середине 70-х годов, когда в Филадельфии на конференции ветеранов Американского легиона была зарегистрирована вспышка тяжелой пневмонии, вызванная неизвестным возбудителем. У 34-х из 221-го заболевшего наступил летальный исход [17, 22]. Уже через полгода был идентифицирован возбудитель этой инфекции, который позже был отнесен

к новому роду грамотрицательных палочек *Legionella*, виду *L. pneumophila* [21]. Этот вид, среди множества других видов является основным патогеном для людей, причем среди 70-ти известных сероваров до 80-90% заболеваний человека вызывает *L. pneumophila* серотипа O1 (3,10, 11, 20). Легионеллы других серогрупп и иные виды легионелл могут редко выявляться у лиц с иммунодефицитом [25, 26].

Легионеллез - это воздушно-капельная инфекция, капли водного аэрозоля диаметром менее 5 мкм легко



попадают в легкие человека, где возбудитель проникает в альвеолярные макрофаги и начинает интенсивно размножаться [1, 9, 3, 13, 26].

Основной природный резервуар для *Legionella* – это пресноводные среды обитания (реки, озера, ручьи, пруды, подземные воды). Но патоген найден во многих различных искусственных водных объектах, в нишах, созданных человеком. Оптимальная температура для легионелл – 20,5°C – 50°C, поэтому любая система водоснабжения с этой температурой – это потенциальное место размножения легионелл (2,5,7,6). В централизованных системах кондиционирования воздуха водные системы охлаждения являются обязательным элементом (охладительная башня, градирня) и именно в них возможно накопление легионелл до высоких концентраций, что представляет наибольшую эпидемиологическую опасность [5, 15]. К другим искусственным сооружениям, генерирующим водные аэрозоли, являющиеся источниками заражения легионеллами, относятся кондиционеры, декоративные фонтаны, душевые установки, увлажнители воздуха, гидромассажные курорты, спа [14, 16, 12, 18, 24].

В Узбекистане ни вспышки, ни спорадические случаи БЛ не зарегистрированы. Однако это не означает, что у нас отсутствует эта инфекция. Больные с атипичной этиологически нерасшифрованной пневмонией не обследуются на легионеллы, не проводятся профилактические исследования эпидемиологически опасных водных объектов. В то же время, из-за жаркого климата у нас в стране все более широко используются различные искусственные водные системы, представляющее высокий эпидемиологический риск. В связи со все более расширяющимся потоком туристов интенсифицируется строительство и реконструкция гостиниц, отелей с созданием новых искусственных ниш для легионелл. В связи со сказанным, актуальность исследований легионеллеза в республике не вызывает сомнений. Первоочередными вопросами являются: разработка нормативно-технической документации по проведению профилактических исследований эпидемиологически опасных водных объектов и по проведению микробиологической диагностики инфекции на современном уровне. Кроме того, для выполнения указанных задач в Узбекистане необходима подготовка материально-технической базы.

Цель исследования. Определить частоту обнаружения *Legionella pneumophila* в различных искусственных водных объектах г. Ташкента и Ташкентской области

Материал и методы

Работа выполнялась в течение 2010–2016 гг. в лаборатории Управлении санитарно-эпидемиологического надзора Главного медицинского управления при Администрации Президента, часть исследований была проведена на базе лаборатории в НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи РАМН, в Центре изучения легионеллез в РФ. Исследованы административные здания и сооружения г. Ташкента и Ташкентской области, предметом изучения являлась вода различных искусственных водных объектов

Подготовка проб к исследованию. При сильной загрязненности исходного образца проводят предварительную фильтрацию через стерильный ватно-марлевый или бумажный фильтр, затем пропускают через мембранный фильтр, фильтр помещают в 10 мл физ.

раствора, встряхивают, центрифугируют при 6000 об/мин в течение 30 минут. Над осадок удаляют, осадок ресуспендируют в физрастворе. Для снижения уровня загрязненности сконцентрированной пробы посторонней микрофлорой одну ее часть подвергают прогреванию на водяной бане при 50°C в течение 30 минут, а другую обрабатывают кислотным буфером (0,2 мл раствора кислотного буфера KCl-HCl, pH 2,2 4 мин.) [1].

Для выделения легионелл использовали стандартную среду (производитель LAB M, Великобритания) – буферный угольно-дрожжевой агар (БУДРАГ, В.С.У.Е.) с ростовой (L-цистеин и пирофосфат железа) и селективной (полимиксин В, ванкомицин и циклогексимид) добавками.

В качестве контрольной среды, не поддерживающей рост легионелл, использовали среду БУДРАГ без добавления селективной и ростовой добавок. Чашки с посевами инкубируют при 37 °C до 10 дней во влажной атмосфере и в присутствии 2,5 % CO₂. Типичные для *Legionella* spp. колонии подсчитывают количественно для последующего определения количества легионелл в 1 литре воды.

Далее все выделенные на среде БУДРАГ культуры легионелл подтверждали ПЦР в реальном времени с набором реагентов производства ЗАО "Синтол". Набор "АмплиЛег-РВ" – для одновременного выявления в образцах специфического фрагмента ДНК гена 16S рРНК (имеют все виды *Legionella* spp.) а также для обнаружения и количественного определения специфического фрагмента ДНК гена *mip* *L. pneumophila*, контролирующего белок, необходимый для проникновения в макрофаги и экспрессии вирулентности.

Результат и обсуждения

За указанный период было исследовано 302 образца воды. Исследованные образцы воды: систем кондиционирования (включали камеры орошения, конденсаты, смывы из сливных труб); душевых кабинок; из систем отопления; из бассейнов закрытого и открытого типа; из фонтанов; из танков хранения воды; из градирен (охладительных башен).

При этом из 29 положительных проб на легионеллы 16 (62,1%) определялись в воде кондиционеров. На 2-м месте (20,7%) – вода систем отопления, 13,8% – вода градирен и всего один образец (3,4%) – вода фонтана. В воде из душевых кабинок, бассейнов и из танков для хранения воды *L. pneumophila* обнаружены не были.

В большинстве положительных водных образцов концентрация легионелл составляла от 1х10² до 5х10² КОЕ/мл. Максимальные концентрации легионелл были обнаружены в 2012 г. из воды системы кондиционирования – 1х10² КОЕ/мл; в 2016 г. в градирне – 7х10² КОЕ/мл и в 2015 г. в уличном фонтане – 5,6х10² КОЕ/мл. Согласно научно-технической документации [8], указанные количества легионелл в наванных образцах воды допустимы, они свидетельствуют о колонизации, не представляют эпидемической опасности, не требуют проведения на этих объектах профилактических мер и ежемесячного микробиологического контроля. Ни на одном из водных объектов при повторных микробиологических исследованиях после проведения дезинфекционных процедур положительных результатов на *L. pneumophila* не обнаружено.

Выводы

1. В искусственных водных системах административных зданий и сооружений г. Ташкента и Ташкентской области колонизация легионеллами составила 9,5%.

2. Из общего количества водных колонизированных объектов легионеллы наиболее часто колонизировали воду из систем кондиционирования (62,1%) и систем отопления (20,7%).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гришин, И.А. Легионеллез - техногенная инфекция / И.А. Гришин // Материалы всероссийской научно-практической конференции с международным участием "Актуальные проблемы эпидемиологии на современном этапе" (13-14 октября, 2011 г., М. - М., 2011. - С. 127-129.
2. Груздева О.А. Научно-методические основы обеспечения профилактики легионеллеза в условиях мегаполиса. Автореф. д.м.н. Москва 2017
3. Методические рекомендации "Методические особенности диагностики легионеллезной пневмонии в лечебно-профилактических учреждениях" И.С. Тартаковский, Р.Р. Адгамов, С.А. Ермолаева, Ю.Е. Дронина и др. КМАХ, 2013, Том 15, № 3, 166-172
4. Методические рекомендации. Выявление и количественное определение легионелл в водных образцах внешней среды методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с использованием тест-систем производства ЗАО "Синтол". МР 02.039-09. - М., 2009.
5. Новокшонова, И.В. Выявление и характеристика легионелл, циркулирующих в водных системах охлаждения промышленных предприятий: автор. к.б. н: М., 2013
6. Онищенко Г.Г., Лазикова Г.В., Чистякова и др. Эпидемиологическая характеристика вспышки легионеллеза в г. Верхняя Пышма Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. - 2008. - № 2. - С. 82-85
7. Садретдинова О.В., Груздева О.А., Карпова Т.И. Контаминация *Legionella pneumophila* систем горячего водоснабжения зданий общественного назначения, в том числе лечебно-профилактических учреждений. КМАХ, 2011, т 3, №2, 163-167.
8. Санитарные Правила СПЗ.1.2.2626-10 ?Профилактика легионеллеза?. М. 2010 (утв. постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 5 мая 2010 г. № 53)
9. Систер В.Г. Цедилин А.Н., Иванникова Е.М. и др. Легионеллез - причины возникновения, профилактические мероприятия Известия Московского государственного технического университета МАМИ. - 2012. - Т. 4. - №2 (14). С.283-286.
10. Тартаковский И.С., Синопальников А.И., Демина Ю.В. Профилактика легионеллеза как основа для нового направления профилактики нозокомиальных инфекций. КМАХ 2010, т.12, №4, 272- 283
11. Brian H. Raphael, Deborah J. Baker, Elizabeth Nazarian, Pascal Lapierre, и др. Genomic Resolution of Outbreak-Associated *Legionella pneumophila* Serogroup 1 Isolates from New York State. Applied and Environmental Microbiology June 2016 Volume 82 Number 12, 3582-3590
12. Brousseau N, L?vesque B, Guillemet TA, и др. 2013. Contamination of public whirlpool spas: factors associated with the presence of *Legionella* spp., *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*. IntJ Environ Health Res 23:1-15
13. Burillo Almudena MD, PhD, Mar?a Luisa Pedro-Botet, MD, PhD, Emilio Bouza Microbiology and Epidemiology of Legionnaire's Disease MD, PhD Infect Dis Clin N Am 31 (2017) 7-27
14. Campese C, Roche D, Clement C. 2010. Cluster of Legionnaires' disease associated with a public whirlpool spa, France, April-May 2010. Euro Surveill 15(26): pii_19602.
15. Cheng VC, Wong SS, Chen JH, Chan JF, An unprecedented outbreak investigation for nosocomial and community-acquired legionellosis in Hong Kong. 2012. Chin Med J (Engl) 125:4283-4290
16. Coetzee N, Duggal H, Hawker J. An outbreak of Legionnaires' disease associated with a display spa pool in retail premises, Stoke-on-Trent, United Kingdom, July 2012. Euro Surveill 17(37): pii
17. Fraser DW, Tsai TR, Orenstein W. Legionnaires' disease: description of an epidemic of pneumonia // N Engl J Med 1977. 297:1189-1197.
18. Haupt TE, Heffernan RT, Kazmierczak JJ 2012. An outbreak of Legionnaires disease associated with a decorative water wall fountain in a hospital. Infect Control Hosp Epidemiol 33:185-191.
19. Lin YE, Stout JE, Yu VL. 2011. Controlling *Legionella* in hospital drinking water: an evidence based review of disinfection methods. Infect Control Hosp Epidemiol 32:166 -173.
20. Mar?a Luisa Pedro-Botet, Brian H. Deborah J. Genomic Resolution of Outbreak-Associated *Legionella pneumophila* Serogroup 1 Isolates from New York Applied and Environmental Microbiology June 2016 Volume 82 Number 12, 3582-3590
21. McDade JE. 2002. Legionnaires' disease 25 years later: lessons learned, p1-12. In Marre R, Kwaik YA, Bartlett C, Cianciotto NP, Fields BS, Frosch M, Hacker J, Luck PC (ed), *Legionella*. ASM Press, Washington, DC.
22. McDade JE, Shepard CC, Fraser DW, Tsai TR, Redus MA, Dowdle WR. 1977. Legionnaires' disease: isolation of a bacterium and demonstration of its role in other respiratory disease. N Engl J Med 297:1197-1203.
23. Mercante J.W., Jonas M. Current and Emerging *Legionella* Diagnostics for Laboratory and Outbreak Investigations January 2015 Volume 28 Number 1, 95-133 Clinical Microbiology Reviews
24. O'Loughlin RE, Kightlinger L, Werpy MC, Brown E, Stevens V, Hepper C, Keane T, Benson RF, Fields BS, Moore MR. 2007. Restaurant outbreak of Legionnaires' disease associated with a decorative fountain: an environmental and case-control study. BMC Infect Dis 7:93.
25. Tin Han Htwe, MDa, Nancy M. Khardori, MD, PhD Legionnaire's Disease and Immunosuppressive Drugs Infect Dis Clin N Am 31 (2017) 29-42
26. Xiao-Yong Zhan, Chao-Hui Hu, Qing-Yi Zhu *Legionella* Pathogenesis and Virulence Factors Annals of Clinical and Laboratory Research, 2015. Vol. 3 No. 2: 15, 1-16.

Поступила 09.03. 2020